云南植物研究 1987；9（4）：463—468
Acta Botanica Yunnanica

提高成年云南山楂树试管培养苗生根率的方法

黄仕周　刘艾琴　胡　虹　段金玉

（中国科学院昆明植物研究所，昆明）

摘要　用成年云南山楂*Crataegus scabrifolia* (Franch) Rehd．树的无菌增殖芽苗作为生根试验材料。结果表明：接种在含生长素（IBA、NAA）0.01—1.0 mg/l的MS/2培养基中，芽苗的平均生根率为50.4%；在高浓度（150—250mg/l）生长素溶液中浸泡芽苗基部30分钟，然后接种到无生长素的MS/2培养基中，其生根率为60.1%；用高浓度生长素液蘸芽苗基部的生根率为83.5%；芽苗在含IBA 1—5 mg/l的培养基中培养2—4天，然后转入MS/2培养基中诱导生根，生根率可达92%以上，根伸长正常。黑暗条件明显抑制生根，每日16小时至24小时光照对芽苗生根有益。
关键词　云南山楂；试管培养苗；生根率

在前报[1]中曾指出：在离体培养条件下；源于云南山楂*Crataegus scabrifolia* (Franch) Rehd．成年树茎尖的芽条比源于实生苗的芽条难于分化生根。如使云南山楂成年树茎尖的无性系快速繁殖进入实用阶段需进一步提高芽苗的生根率和根的质量。本文报道不同培养程序，生长素种类、浓度、处理时间以及培养的光、温条件对来源于不同母树的芽苗生根的影响，提出提高生根率和芽苗质量的培养方法。

材料和方法

1.材料　供试母树来源于云南的四个地方，其树龄、树势等情况见表1。取母树主干基部（2.5米附近）侧枝上的顶芽、侧芽作为培养材料。供生根试验用的材料是继代了4—8代的芽苗，其长度3 cm左右。

2.培养程序和培养基　培养物的建立和芽增殖的基本培养基是MS或SH，附加肌醇100mg/l、水解酪蛋白300—500mg/l、6-BA0.5—1 mg/l，蔗糖3%，琼脂0.6%，pH5.8。试验设如下四种培养程序：

A．芽苗始终在含有生长素的培养基中诱导生根。培养基成分是减半的MS，但肌醇100mg/l，蔗糖2%，琼脂0.6%，并附加水解酪蛋白300—500mg/l，按试验要求加入不同种类和不同量的生长素。

B．芽苗基部在生长素溶液中短时浸泡，然后转入无生长素的培养基中培养，培养基基本成份同A。

1986-12-11收稿

表1 供试树的生长状况 （采样日期：1984、2；1985、5、）

Table 1 The growing state of the tested tree (Collection date: 1984. 2; 1985. 5.)

树号 Tree No.	采集地 Locality	树况 State of tree			
		年龄 Age	高度 Highness (m)	冠幅 Crown (m)	胸围 Chest measurement (m)
S_1	玉溪地区 Yuxi region	150	15	15	2.0
S_2	易门县 Yimen county	200	16	16	2.2
S_3	晋宁县—1 Jinning county—1	100	15	15	1.8
S_4	晋宁县—2 Jinning county—2	15	8	6	0.8

C.将B中的浸泡改为蘸芽苗基部，其余同B。以上三种程序称为一步生根法。

D.两步生根法：首先将芽苗接种到含1—5 mg/l IBA或NAA的培养基中培养2—4天，再移入无生长素的培养基中生根。培养基成分同程序A，唯第二步的蔗糖降至1.5%。

3.培养条件 温度25±2°C，每日光照14—16小时（光照、温度试验例外），光辐射强度4—5瓦/米²。

试验结果

1.不同培养程序对芽苗生根的影响 （1）接种在低浓度（0.01—1.0mg/l）生长素培养基中的芽苗，基部均有不同程度的愈伤组织，出根时间较长；生根率在50%左右，个别可达75%，但不稳定，每苗只有1—2条根（表2，A）。（2）用高浓度（150—500mg/l）生长素溶液短时浸泡或蘸芽苗基部，然后插入无生长素的培养基中培养，基部形成较多愈伤组织，开始时根的突起较多较粗，生根率一般在45—85%，但根伸长缓慢或不伸长，根部大多变成黑褐色，不易形成正常苗。一般看来，蘸条比浸泡芽苗的生根率要高，抑制根伸长的作用要小，在150—500mg/l浓度范围内，低浓度的生根效果要好的多（表2，B、C)。（3）芽苗在含生长素1—5 mg/l的培养基中培养2—4天，然后移入无生长素的培养基中继续培养（两步生根法），芽苗基部几乎不产生愈伤组织，处理后5—7天可看到基部呈黄白色膨大，9—11天有根突起并有少数芽苗的根伸出，见根后15天左右全部根长出。处理后一个月根长平均1 cm，每苗3—5条根，生根率一般在92%（表2，D)，高的达98%。试验结果表明，上述四种培养程序中以两步生根法的生根率最高、最稳定。

2.各种生长素对无菌芽苗的根分化的作用 IBA、NAA、IAA、IPA四种生长素浓度各为1.0mg/l，用两步生根法培养结果（图1）是：（1）生根率以加IBA的最高，达98%；IPA的最低为57%，生根率高低顺序是IBA>NAA>IAA>IPA>对照。（2）加生长素者芽苗的生根势均较良好，一般在见根后5天中的生根率占总生根率的2/3左右，10—15天接近于最高值。（3）经IBA处理的多数芽苗有3—5条根；NAA处理的有2—3条根；IPA处理的平均为1.8条根，略低于对照。以上结果说明，选用IBA，既

表 2　不同培养程序对芽苗生根的影响（接种后30天资料；试验重复 2 — 4 次）

Table 2　The effect of different culture procedure on the rooting of shoots (30 days after inoculation; Duplicate 2 to 4 times)

培养程序 Culture procedure	生长素 Auxin 种类 Kind	生长素 Auxin 浓度 Concertration mg/l	生长素 Auxin 处理时间 Treatment time	供试芽苗数 Tested number of shoots	生根芽苗数 Shoot number of rooting	生根率 Rooting rate (%)
A	NAA	0.01—0.1	30d	426	242	56.8
		1.0		252	96	38.5
	IBA	0.05	30d	80	33	41.3
		0.2		67	50	74.6
		0.5		155	89	56.8
B	NAA	150	30min	132	99	75.0
		200		257	165	64.2
		250		205	93	45.2
C	NAA	250	1—2s	182	147	80.8
		500		105	44	41.9
	IBA	200		160	135	86.2
D	NAA	1.0	4d	95	81	85.3
	IBA	1.0	4d	397	380	95.8
		5.0	2d	189	174	92.1

A: The shoots were inoculated to culture medium added with auxin.

B: The bases of the shoots were immersed in high auxin concertration solution then inoculated to the medium devoid of auxin.

C: The bases of the shoots were dipped in high auxin concertration solution then inoculated to the medium devoid of auxin.

D: The shoots were incubated in culture medium of added with appropriate auxin several days then were transfered to the medium devoid of auxin.

可得到高的生长率和整齐的生根势，每棵小植株又有较多的根数。

3.不同浓度的IBA和不同处理时间对芽苗的生根效果的比较　用两步生根法在含 1mg/l和 5mg/l的IBA 的培养基中培养芽苗 2 、 4 、 6 天，结果（图 2 ）看到， 1mg/l IBA的生根率比 5mg/l的要稍高些；无论是低浓度还是高浓度，处理时间超过 4 天都会导致芽苗基部产生过多的愈伤组织，致使生根率下降并抑制根的伸长（接种一个月后根长 2 — 4 mm，正常的为 8 —10mm）；芽苗在 1mg/l IBA的培养基中培养 4 天， 5mg/l 的培养 2 天生根率最高，超过92%。

4.照光时间对芽苗生根有显著影响　用两步生根法把供试芽苗分别置于每日照光 0 、 8 、16、24小时的条件下培养，结果（表 3 ）显示，黑暗条件严重抑制根的产生和伸长，生根率仅41%，根长出较晚，生根过程较长，每棵苗的根数少，根短，苗茎弱，不展新叶，生长不正常。每日 8 小时的短光照与不照光的相比能大幅度提高生根率和苗

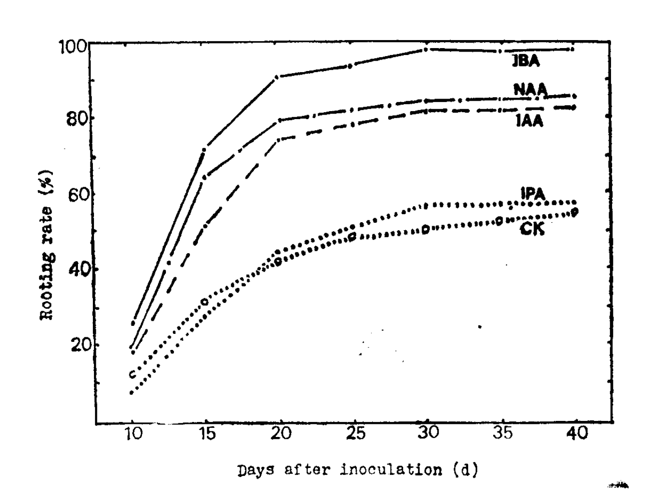


图1　不同生长素对芽苗生根率的影响（生长素1 mg/l；培养4天；供试芽苗数：95—106个芽苗）

Fig. 1　The effect of different auxin on the rooting rate of shoots (auxin 1 mg/l; inocubated 4 days; tested number of shoots: 95 to 106 shoots)

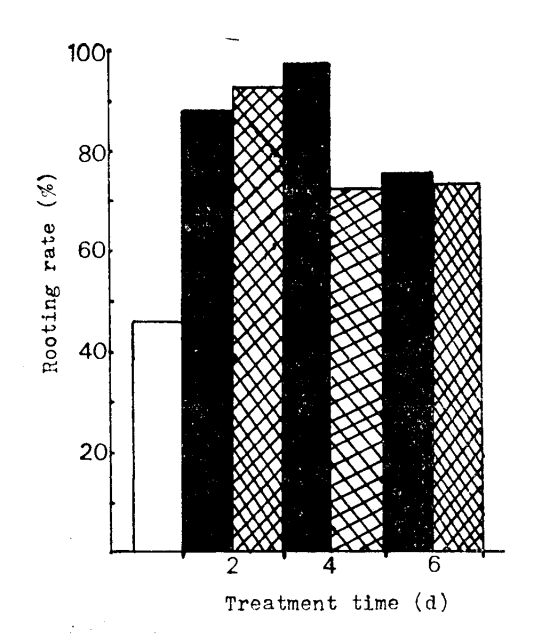


图2　不同IBA浓度和处理时间对芽苗生根的影响（供试芽条数：84—100个芽；接种后30天资料）

Fig. 2　The effect of different IBA concertration and treatment time on the rooting rates of shoots (Tested number of shoots: 84 to 100; 30 days after inoculation)

对照 Control

IBA　1 mg/L

IBA　5 mg/L

的素质，但仍不及每日照光16小时和全光照的处理。为了提高试管苗的数量和质量每日照光16小时是必要的。

5.不同母树无菌增殖芽苗的生根比较　用1 mg/l IBA处理4天的两步生根法比较了玉溪地区（S_1）、易门县（S_2）、晋宁县（S_3、S_4）四个地方不同树龄云南山楂的生根情况。结果表明玉溪地区（S_1）、晋宁县（S_3、S_4）材料生根率都在90%以上，每苗平均有5条根；易门县（S_2）材料生根率较低，仅71%，每苗平均只有2.5条根。

表 3　不同光照时间下的芽苗生根情况

Table 3　Rooting of shoots states under different illumination conditions

每日照光时数 Every day illumination time (h/d)	接种数 Number of inoculated	生根数 Number of rooting	生根率 Rooting rate (%)	平均根数 Arerage of per shoot	最多根数 Maximum number of roots per shoot	平均根长 Mean length of roots (cm)
0	109	45	41.3	2.3	5	0.2
8	105	92	87.6	3.8	8	0.5
16	104	98	94.3	4.0	8	0.7
24	105	99	94.3	4.0	9	0.8

讨　论

前述结果表明两步生根法诱导根的效果远优于一步生根法。其原因我们认为是：一步生根法中，芽苗始终在生长素的作用下，根的伸长受抑；浸泡或蘸芽苗基部的一步生根法，虽然培养基中没有直接加入生长素，但芽苗附近的生长素浓度可能相当高，它在初期可能诱导较多根原基的发生，但继后就对根原基的生长有抑制作用，芽苗基部产生很多愈伤组织，因此不能形成健壮的小植株。相反，两步生根法的第一步是芽苗在生长素作用下形成较多的根原基，第二步是在无生长素的抑制作用下让根伸长并正常生长。从而解决了根原基的发生与根伸长之间的矛盾，又避免了基部产生过多的愈伤组织。这种分阶段诱导根的办法在一些温带果树的组织培养中已有采用[2]。Rugini and Verma 在难于离体生根的杏（*Prunus amygalus* Batsch）的组织培养中，也运用两步生根法把生根率提高[3]。

易门县（S_2）材料的芽苗生根率低，可能由于树龄太大。木本植物中成年态树产生的芽较幼态树产生的芽难于诱导根的现象有许多报道[1，4]。

有的作者认为，山楂在试管中诱导生根的效果并不好，建议采用生长素处理嫩枝再行扦插的办法来提高生根率[1)]。本试验解决了成年云南山楂无菌芽苗试管内生根问题，将有助于成年云南山楂良种育苗的快速繁殖。

参　考　文　献

1　胡虹，黄仕周，段金玉．云南植物研究　1987；9（2）:353

2　John H Dodds. Tissue culture of trees. American edition. The Avipublishing Company, Inc. Westport, Connecticut. 1983:71—74

3　Eddo Rugini, Devic Verma. *Plant Science Litters* 1983；28(3):273—281

4　巴尔茨 W，赖因哈德 E，岭克 M H主编（夏镇澳等译）．植物组织培养及其在生物技术上的应用．北京：科学出版社，1983：266—267

1）中国植物学会编．植物组织培养法．1985：43—52

WAYS OF ENHANCING THE ROOTING RATE OF THE IN VITRO CULTURE SHOOTS FROM ADULT CRATAEGUS SCABRIFOLIA TREES

Huang Shizhou, Liu Aiqin, Hu Hong, Duan Jinyu

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming)

Abstract The sterile multiplied shoots of the adult *Crataegus scabrifolia* (Franch) Rehd. were used as the experiment material of rooting. The results showed: shoots inoculated to culture medium of MS/2 added with auxin (IBA, NAA) at 0.01—1.0mg/l, the rooting percentage was 50.4%. When the bases of the shoots first were immersed in high auxin concertration (150—250mg/l) solution for 30 minutes, then inoculated to the culture medium of MS/2 devoid of auxin, the rooting percentage was 60.1%; if dipping the bases of shoots for 1—2 seconds, the rooting percentage was 83.5%; if the shoots were cultured for 2—4 days in MS/2 medium with IBA at 1—5mg/l, then were transfered to the same medium but devoid of auxin, 15 days or so, the rooting percentage was over 92% and roots elongated normal; the rooting almost was not influenced with temperture between 20—29°C; rooting was obviously inhibited in the dark, unsatisfied under light condition 8 hours a day, but very satisfied in 16 hours or 24 hours a day.

Key words *Crataegus scabrifolia*; Rooting rate; *In vitro* culture shoots